

## La protection phytosanitaire du cotonnier en Afrique



## La résistance des insectes ravageurs aux insecticides



Thierry Brévault  
UPR « Systèmes de culture annuels »

SupAgro 11/02/2011

## La résistance aux insecticides

- Définitions et historique
- Surveillance et détection
- Mécanismes biochimiques
- Génétique de la résistance
  
- Du mécanisme à la gestion:  
*Helicoverpa armigera*  
*Aphis gossypii*

## DEFINITION

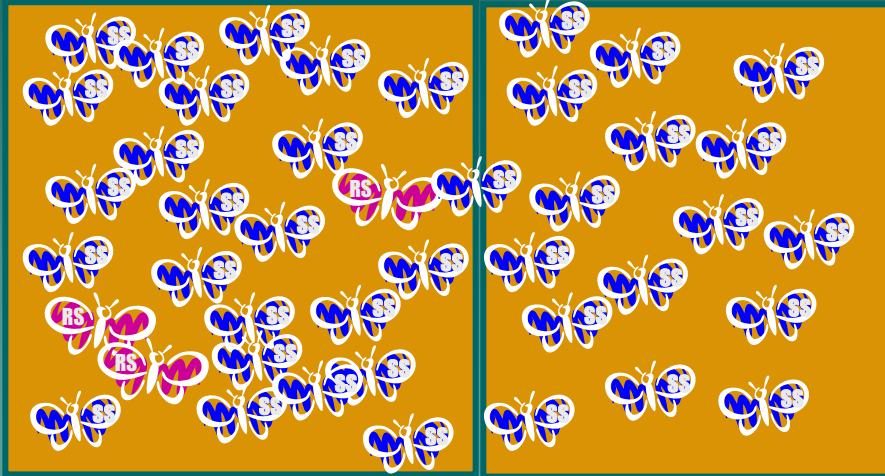
Diminution d'ordre **génétique** de la sensibilité d'une population d'insectes à un insecticide par l'exposition de cette population à l'insecticide (Tabashnik, 1994)

- changement de fréquence des allèles de résistance par sélection

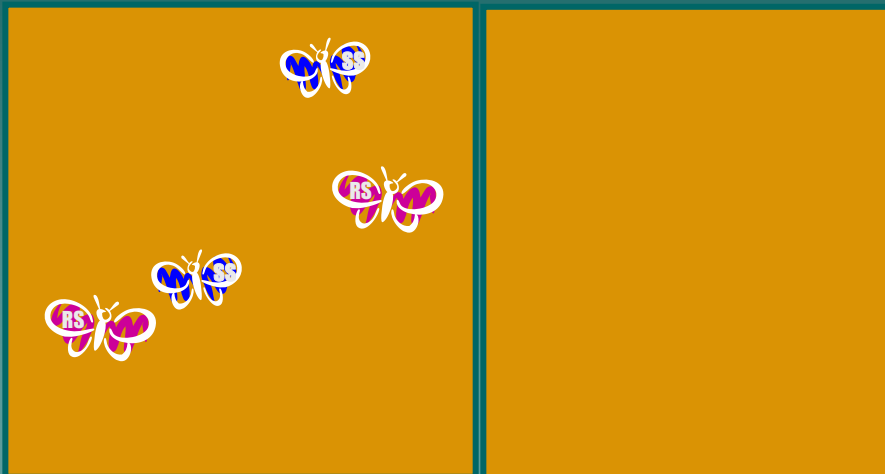
### ◆ **Trois notions**

- Perte de sensibilité
- Héritabilité
- Echec du traitement au champ  
champ vs. laboratoire

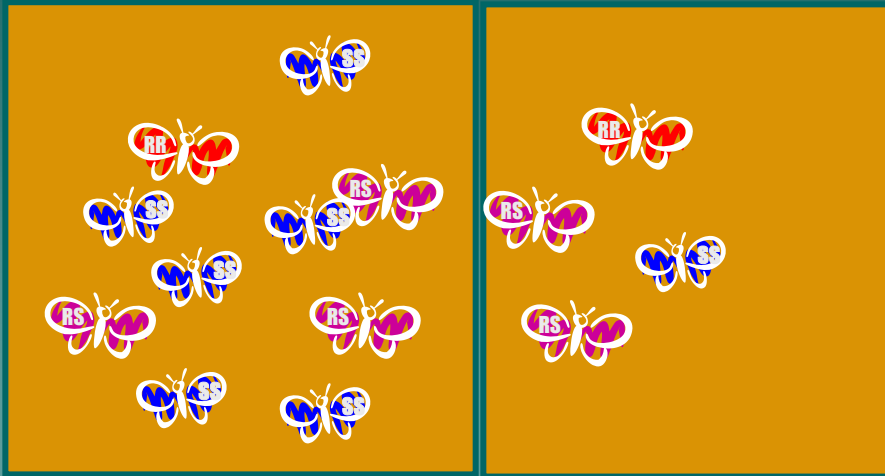
## Evolution de la résistance



## Evolution de la résistance



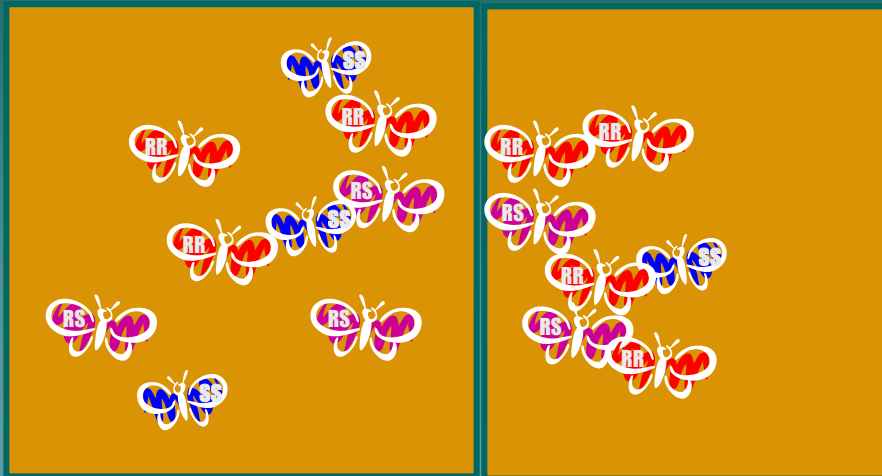
## Evolution de la résistance



## Evolution de la résistance



## Evolution de la résistance



### Points à vérifier avant de parler de la résistance au champ

- Efficacité de l'insecticide dans le passé
- Qualité de l'application, qualité et formulation de l'insecticide
- Baisse d'efficacité prouvée malgré une bonne utilisation
- Changement héritable de la sensibilité de la population du ravageur

# HISTORIQUE

## Cas de résistance à différentes familles d'insecticides

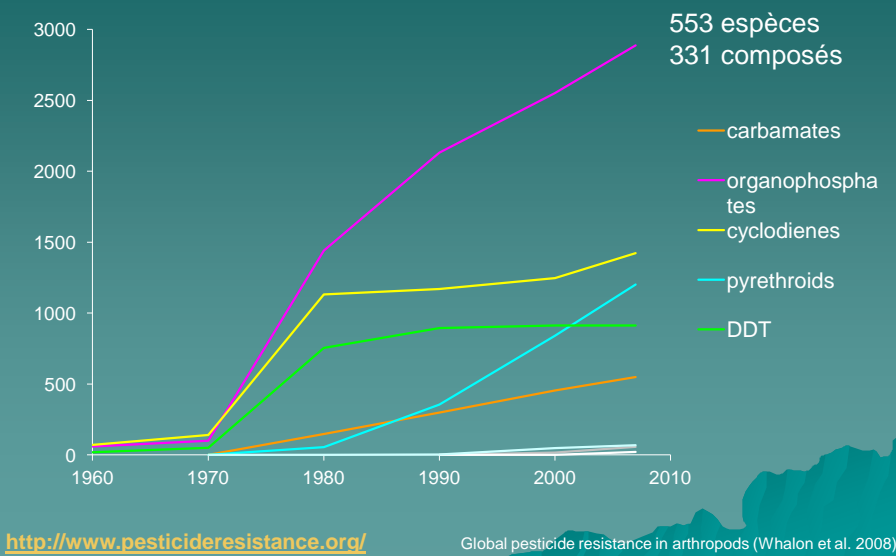


Table 1.3. Top 20 resistant arthropods, ranked by number of unique compounds.

Rank	Species	Family	Order	No. of compounds with reported resistance	No. of references in the APRD	Year of first reported case	Pest of	Common name
1	<i>Tetranychus urticae</i>	Tetranychidae	Acari	80	112	1943	Cotton, flowers, fruits, vegetables	Two-spotted spider mite
2	<i>Plutella xylostella</i>	Plutellidae	Lepidoptera	76	72	1953	Crucifers	Diamondback moth
3	<i>Myzus persicae</i>	Aphididae	Hemiptera	68	78	1955	Fruit, vegetables, trees, grains, tobacco	Green peach aphid
4	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Chrysomelidae	Coleoptera	48	43	1955	Aubergine, pepper, potato, tomato	Colorado potato beetle
5	<i>Musca domestica</i>	Muscidae	Diptera	44	35	1947	Urban	Housefly
6	<i>Boophilus microplus</i>	Ixodidae	Acari	43	32	1947	Cattle	Southern cattle tick
7	<i>Blattella germanica</i>	Blattellidae	Dermaptera	42	65	1956	Urban	German cockroach
8	<i>Bemisia tabaci</i>	Aleyrodidae	Homoptera	39	34	1981	Greenhouse, cotton	Whitefly
9	<i>Panonychus ulmi</i>	Tetranychidae	Acari	38	68	1951	Fruit trees	European red mite
10	<i>Aphis gossypii</i>	Aphididae	Hemiptera	37	24	1965	Cotton, vegetables	Cotton/melon aphid
11	<i>Culex pipiens pipiens</i>	Culicidae	Diptera	34	27	1961	Human	Mosquito
12	<i>Phorodon humuli</i>	Aphididae	Hemiptera	34	20	1965	Hop, plum	Hop aphid
13	<i>Helicoverpa armigera</i>	Noctuidae	Lepidoptera	33	49	1969	Cotton, maize, tomato	Corn earworm
14	<i>Heliothis virescens</i>	Noctuidae	Lepidoptera	33	41	1961	Chickpea, maize, cotton, tomato	Tobacco budworm
15	<i>Culex quinquefasciatus</i>	Culicidae	Diptera	31	42	1952	Human	Mosquito
16	<i>Spodoptera littoralis</i>	Noctuidae	Lepidoptera	30	21	1962	Lucerne, cotton, potato, vegetables	Cotton leafworm
17	<i>Tribolium castaneum</i>	Tenebrionidae	Coleoptera	30	31	1962	Stored grain, groundnuts, sorghum	Red flour beetle
18	<i>Lucilia cuprina</i>	Calliphoridae	Diptera	25	13	1958	Cattle, sheep	Sheep blowfly
19	<i>Rhizoglyphus robini</i>	Acaridae	Acari	22	2	1986	Ornamental plants, stored onions	Bulb mite
20	<i>Anopheles albimanus</i>	Culicidae	Diptera	21	12	1964	Human	Malaria mosquito

APRD, Arthropod Pest Resistance Database.

33.8% des espèces résistantes = Diptera

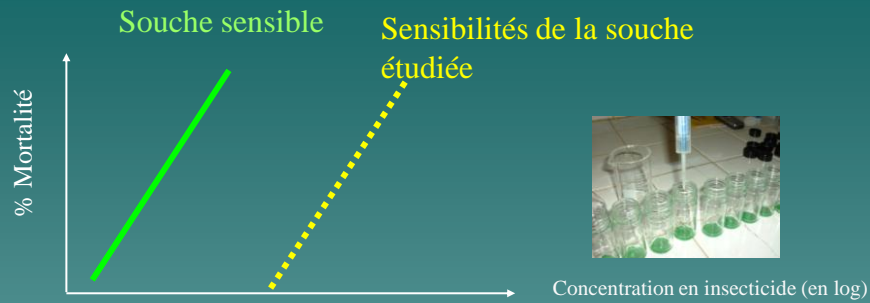
## Les différents types de résistance

- Résistance croisée
- Résistance croisée négative
- Résistance multiple

## La résistance aux insecticides

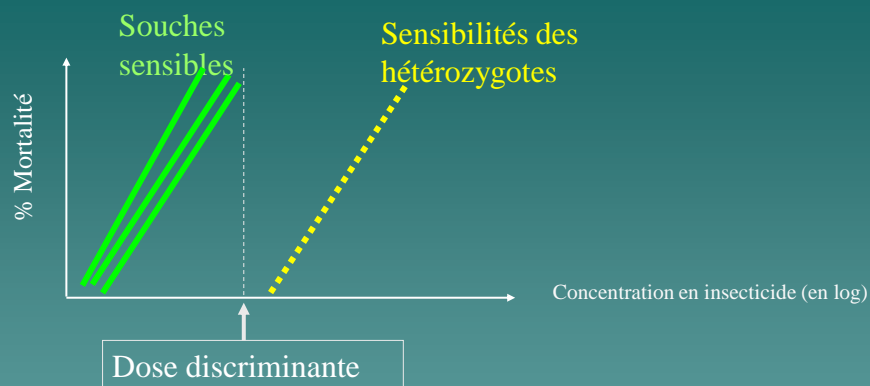
- Définitions et historique
- **Surveillance et détection**
- Mécanismes biochimiques
- Génétique de la résistance
  
- Du mécanisme à la gestion:  
*Helicoverpa armigera* et *Aphis gossypii*

## Mesure de la résistance



- Bioessais au laboratoire (DL50, doses discriminantes, synergistes, etc.)
- Tests biochimiques/immunologiques/moléculaires – connaissance préalable des mécanismes
- Détection moléculaire – connaissance préalable des mutations/gène de régulation associées à la résistance

## Détection de la fréquence des allèles de résistance

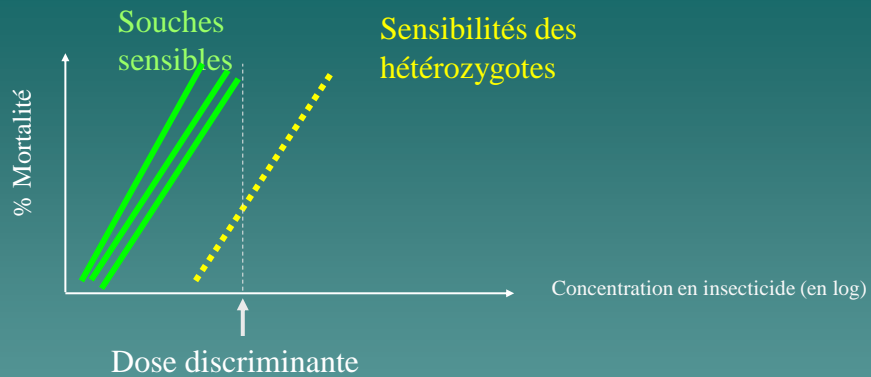


X individus testés.

La fréquence est égale à  $\left[ \frac{\text{nbre de survivant}}{2X} \right]$



## Détection de la fréquence des allèles de résistance



Une fraction des hétérozygotes ne peut pas survivre à la dose discriminante --- > sous estimation de la fréquence réelle

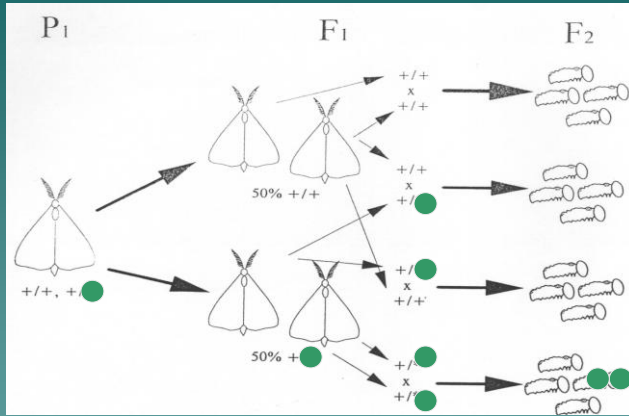
## Détection de la fréquence des allèles de résistance



Seul les homozygotes résistants peuvent être détectés. Or, si la fréquence est de 0.001, le nombre attendu de RR est de 1 sur 1 million

--- > cette méthode n'est alors plus réaliste

## Méthode du F<sub>2</sub> screen



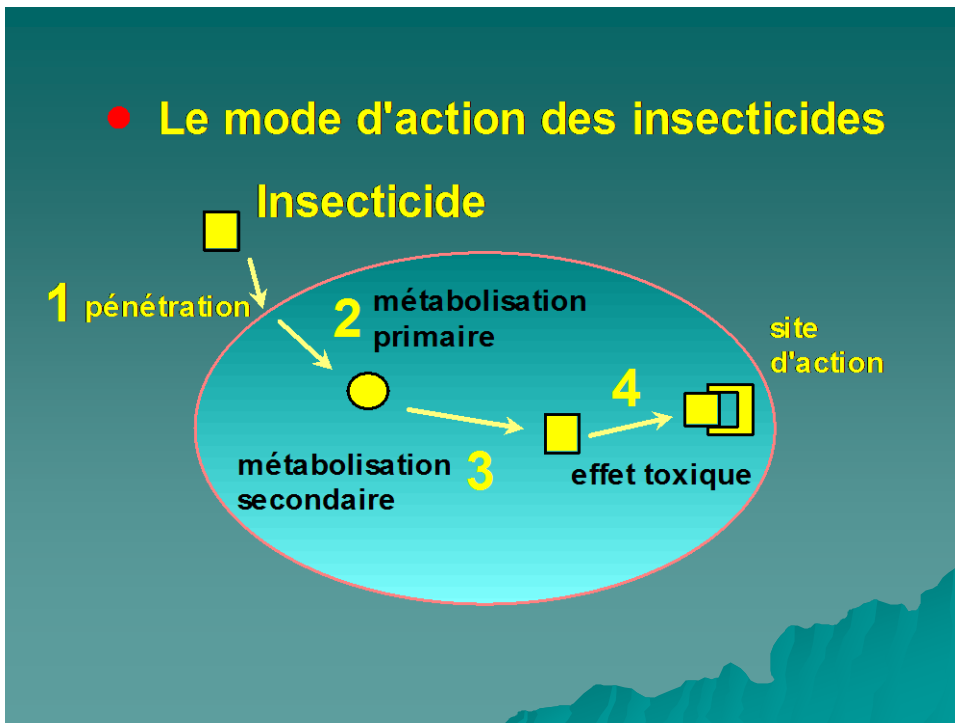
D'après Andow & Alstad 1998

Chaque lignée isofemelle permet d'évaluer 4 allèles à chaque locus

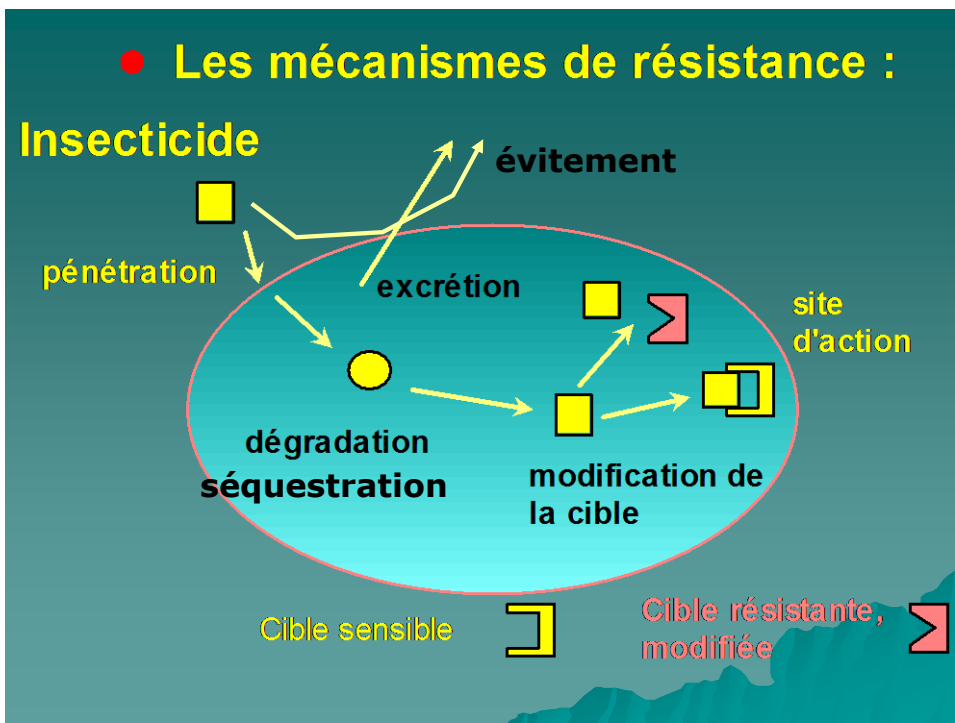
## La résistance aux insecticides

- Définitions et historique
- Surveillance et détection
- Mécanismes biochimiques
- Génétique de la résistance
- Du mécanisme à la gestion:  
*Helicoverpa armigera* et *Aphis gossypii*

## • Le mode d'action des insecticides



## • Les mécanismes de résistance :



## Les mécanismes de résistance

- **comportement** (consommation)
- **pénétration** (modification de la cuticule)
- **métabolisation** (détoxification)
  - estérases, mono-oxygénases (P450),
  - glutathion transférase
- **site d'action** (modification de la cible, kdr, acétylcholinestérase)

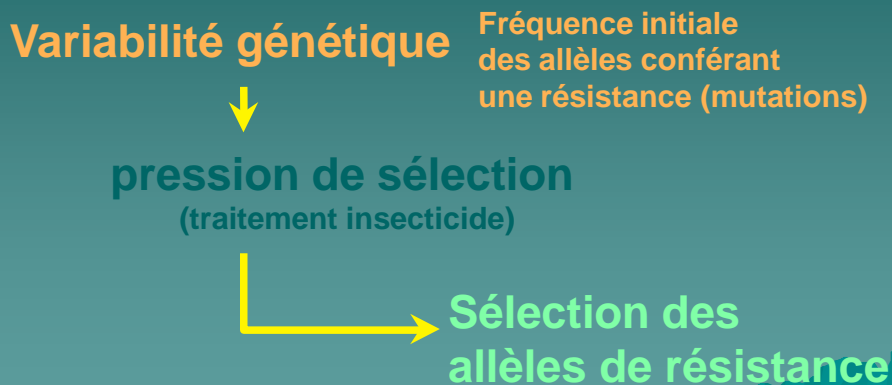
## La résistance aux insecticides

- Définitions et historique
- Surveillance et détection
- Mécanismes biochimiques
- **Génétique de la résistance**
- Du mécanisme à la gestion:  
*Helicoverpa armigera* et *Aphis gossypii*

## Bases génétiques de la résistance

- ♦ **Caractère évolutif**
  - fréquence initiale de la résistance (mutations)
- ♦ **Caractère héréditaire**
  - Nb de gènes impliqués
  - dominance
  - coût

## Le caractère évolutif :



## Trois types de mutations génétiques

- **Modification des gènes structuraux**

Mutation sur le gène

Changement de la nature de l'enzyme ou du site d'action

Efficacité accrue :

\*dégradation accrue

\*pas de fixation sur le site d'action

- **Modification d'un gène de régulation**

Plus de régulation de la synthèse de l'enzyme de dégradation

Synthèse de l'enzyme de dégradation accrue

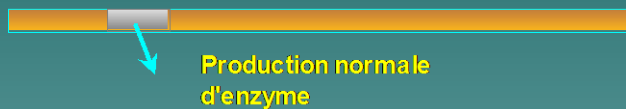
Métabolisation plus rapide de l'insecticide

- **L'amplification ou la duplication génique**

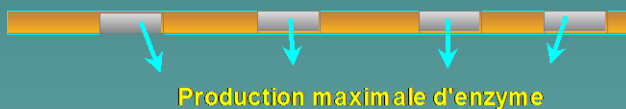
Augmentation du nombre de gènes codant pour la synthèse des enzymes de dégradation

## L'amplification ou la duplication génique :

sensible



résistant



## Attendus théoriques

La fréquence initiale d'une mutation va dépendre :

- Dérive génétique
- Coût de la résistance
- Taux de mutation
- Migration

La fréquence initiale dépend de la balance mutation-sélection

$\sim 10^{-3}$  to  $10^{-6}$

Équilibre de Hardy-Weinberg

SS

RS

rr

## Le caractère héréditaire :

- Nombre de gènes impliqués
- Dominance
- Coût

## Qu'est-ce que la dominance?

C'est un facteur qui décrit la contribution relative d'un allèle au phénotype d'un hétérozygote

La dominance dépend :

- 1- du trait phénotypique considéré
- 2- des autres gènes dans le génome
- 3- de l'environnement

## Dans le cas de la résistance aux insecticides

Un gène de résistance avec deux allèles **S** et **R**

3 génotypes

- SS**
- RS**
- RR**

La dominance décrit le phénotype des individus **RS** comparé à celui des **SS** et des **RR**

Quand le phénotype **RS** = **SS**  
La résistance est récessive

Quand le phénotype **RS** = **RR**  
La résistance est dominante



## Deux traits phénotypiques majeurs

- 1- La **concentration létale** pour un taux de mortalité.  
Dominance de la résistance aux insecticide ( $D_{LC}$ )

$$D_{LC} = (LC_{RS} - LC_{SS}) / (LC_{RR} - LC_{SS})$$

- 2- Le **taux de mortalité** pour une concentration donnée.  
Dominance du taux de mortalité ( $D_{ML}$ )

$$D_{ML} = (ML_{RS} - ML_{SS}) / (ML_{RR} - ML_{SS})$$

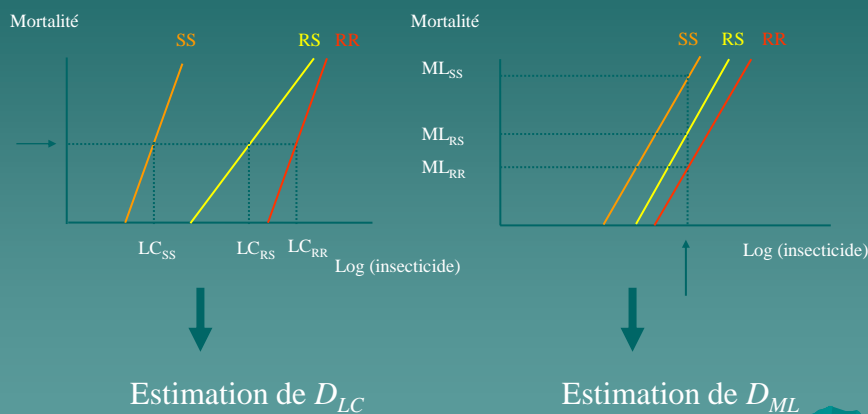
résistance  
récessive

$0 < D_{LC} \text{ et } D_{ML} < 1$

résistance  
dominante

(Bourguet et al. 1995)

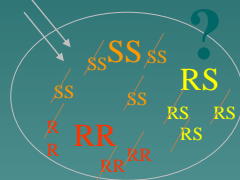
## Courbes de mortalités



## Évolution de la résistance

La dominance  $D_{LC}$  ne donne pas une information très utile pour prédire l'évolution de la résistance

Insecticide



Importance relative de la survie des trois génotype qui est importante pour prédire l'évolution de la fréquence de l'allèle **R**

⇒ Il est plus intéressant de mesurer  $D_{ML}$  que  $D_{LC}$

En fait, l'évolution de la résistance dépend de la valeur sélective et non de la survie relative des trois génotypes

- Valeur sélective dans les zones traitées :

$WT_{SS}$ ,  $WT_{RS}$  &  $WT_{RR}$

$$D_{WT} = (WT_{RS} - WT_{SS}) / (WT_{RR} - WT_{SS})$$

- Valeur sélective dans les zones non traitées :

$WNT_{SS}$ ,  $WNT_{RS}$  &  $WNT_{RR}$

$$D_{WNT} = (WNT_{RS} - WNT_{SS}) / (WNT_{RR} - WNT_{SS})$$

## 1- Coût de la résistance

---

Comparaison de composantes de la **valeur sélective** des individus d'une souche sensible et d'une souche résistante, **en l'absence de pression insecticide**

- temps de développement larvaire
- fécondité
- survie
- succès reproducteur
- etc...

- Difficile à estimer
  - problème du fond génétique
  - problème de la valeur sélective
  - variable en fonction de l'environnement
- Variable : nul, positif ou négatif
- Touche toutes les composantes de la valeur sélective
- N'est pas dépendant
  - de l'allèle de résistance
  - de l'espèce considérée
  - du mécanisme de résistance

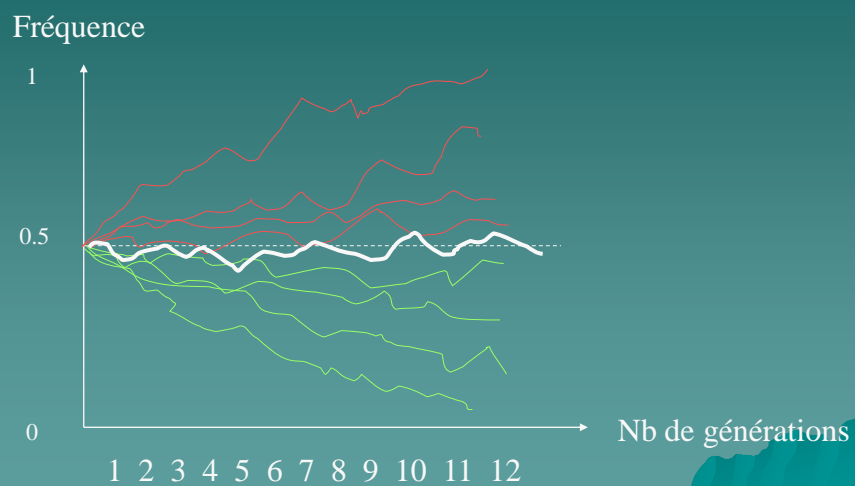
=> **Il est très difficile d'estimer ce coût**

## 2- Évolution de la fréquence de l'allèle R

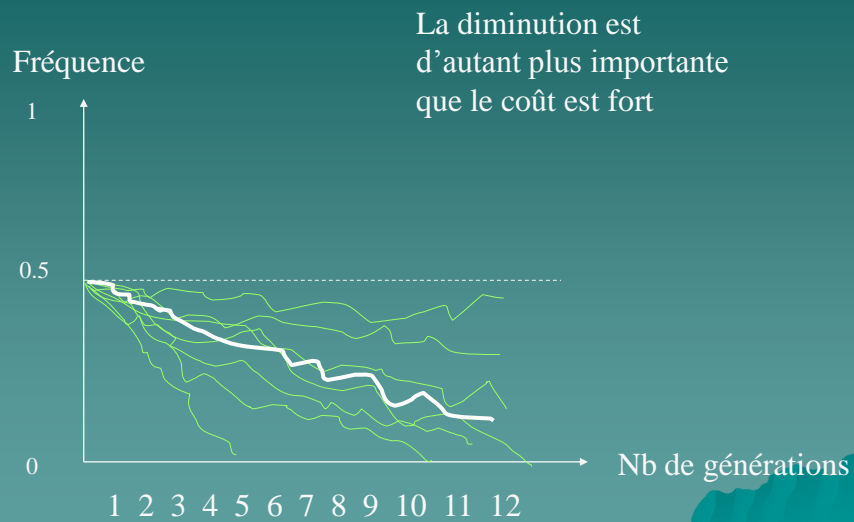


- La fréquence initiale  $q = 0.5$
- Mise en cage de ces **RS** et élevage de masse sur plusieurs générations
- Suivi de l'évolution de cette fréquence au fil des générations dans des cages

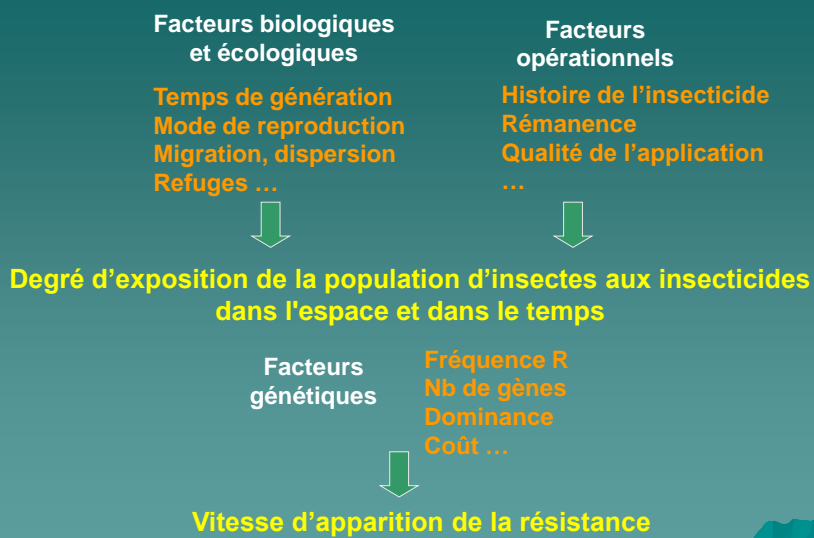
### Absence de coût



## En présence d'un coût



## Facteurs impliqués dans la résistance



## La résistance aux insecticides

- Définitions et historique
  - Surveillance et détection
  - Mécanismes biochimiques
  - Génétique de la résistance
- 
- Du mécanisme à la gestion:  
*Helicoverpa armigera*  
*Aphis gossypii*

## Deux ravageurs clé

*Helicoverpa armigera*

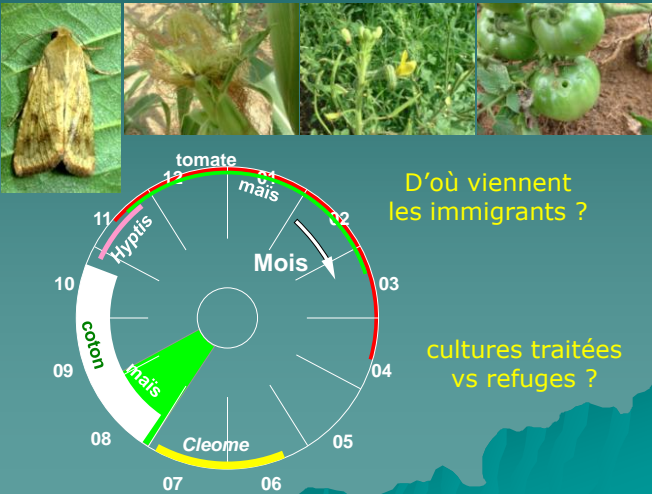


*Aphis gossypii*



# Helicoverpa armigera

- Instabilité des ressources
- Grande Mobilité/diapause
- Grande polyphagie
- Temps de génération long
- Reproduction sexuée : brassage génétique
- Forte pression insecticide



## Heliothis / Helicoverpa



## Surveillance de la résistance



### VIAL TEST

- témoin non traité :10
- 30 µg cyperméthrine :30



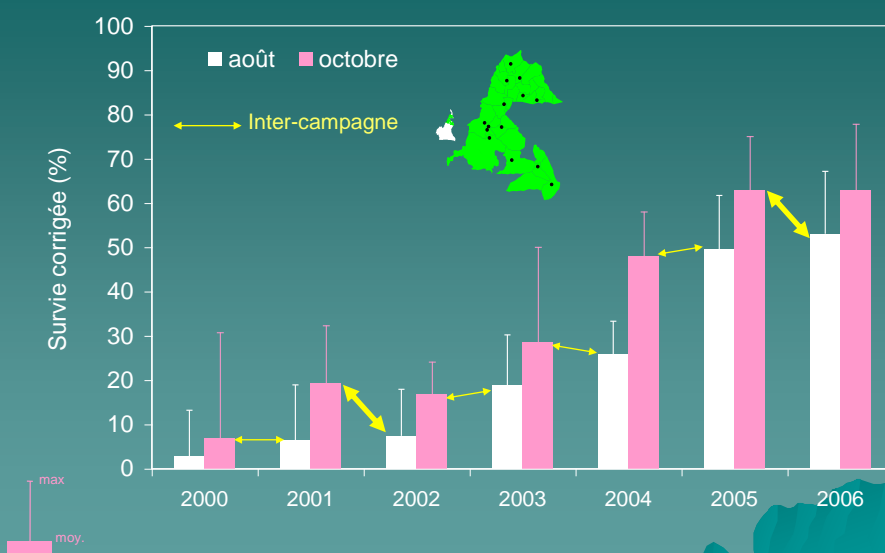
Enquête sur 14 sites  
de la zone cotonnière  
(Nord Cameroun)

août – octobre  
2002-2006



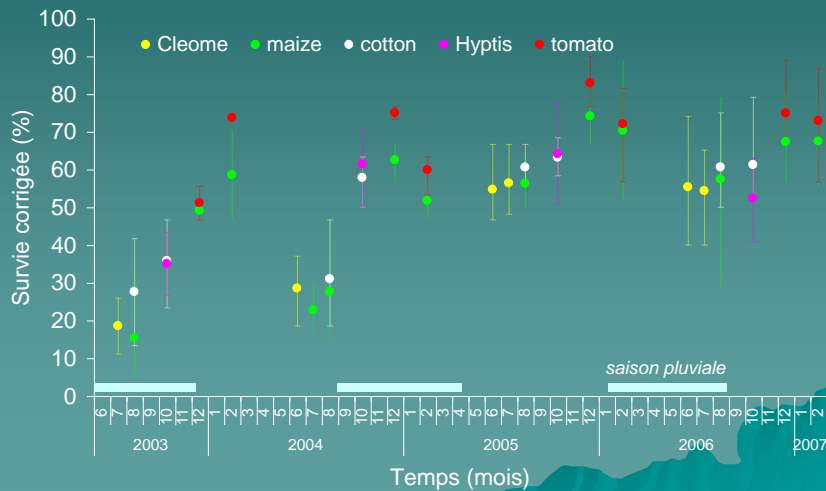
Brévault et al. 2008

## Premiers échecs de traitements en 2004



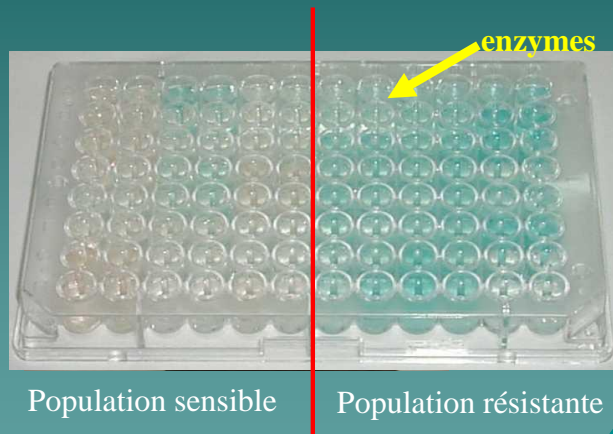


## Flux de gènes: marqueurs de résistance



## Mécanismes de résistance

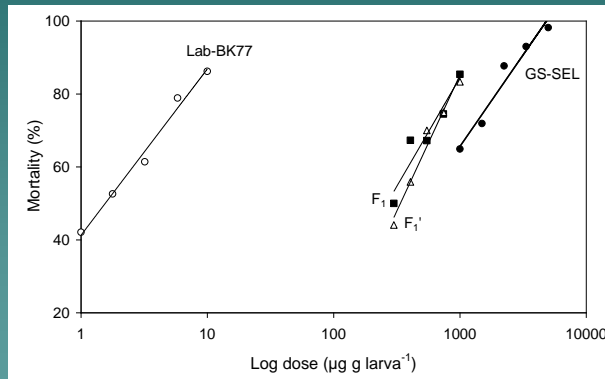
**Détoxification par des enzymes**  
(surproduction d'estérases)



## Génétique de la résistance

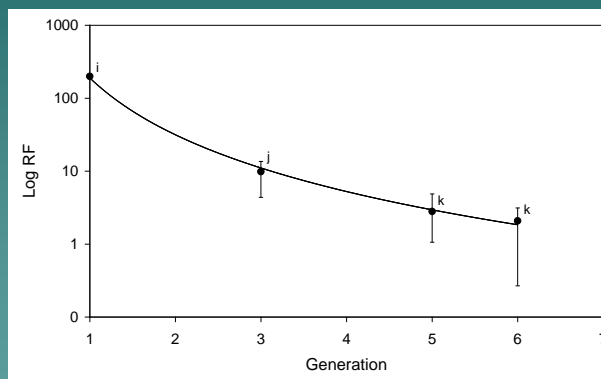
### Résistance monogénique dominante

$$D_{ML} = 0.73-0.99$$



## Mécanismes de résistance

### Coût



## Stratégies de gestion d'*H. armigera*

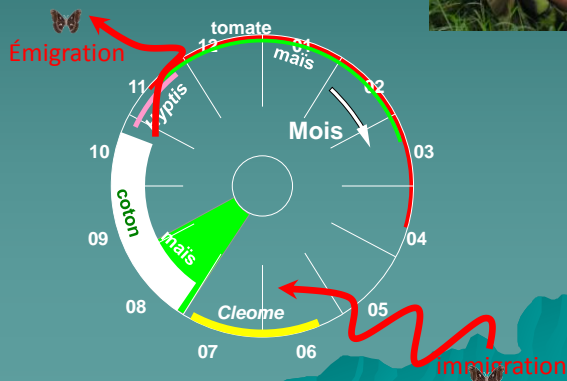
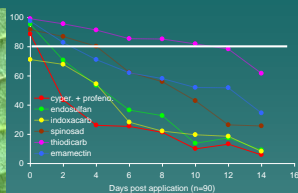
Réseau de surveillance

Alternatives aux pyréthrinoides: traitements ciblés et insecticides sélectifs

Traitements sur seuil (LOIC)

Zones refuges?

Destruction adventices nursery?



## *Aphis gossypii*

Grande instabilité des ressources

Grande capacité de dispersion

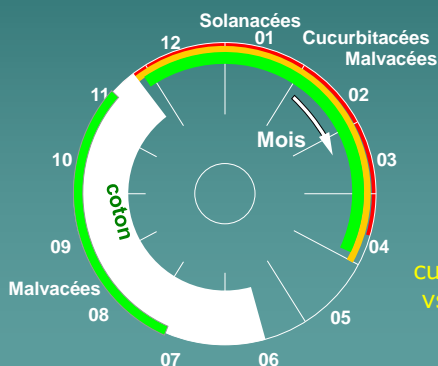
Grande polyphagie

Fort taux de reproduction

Reproduction clonale

Régulation par climat et ennemis naturels

Forte pression insecticide



cultures traitées vs non traitées

Cycle d'*Aphis gossypii* (7-10 jours)

Adultes



3-5 jours

Larve



4-7 jours

Colorations très variables



## Les dégâts directs

- ◆ Prélèvement de sève
- ◆ Pas de toxémiase (jassides, thrips)
- ◆ Préférence pour les variétés très poilues
- ◆ Surtout en début de cycle



## Les dégâts indirects

- ◆ Le collage





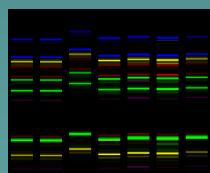
## Enquête d'identité

Qui sont les pucerons qui colonisent le coton ?  
D'où viennent-ils ?

\* Coton : collecte au tout début d'infestation,  
au pic puis en fin de saison (2 campagnes)

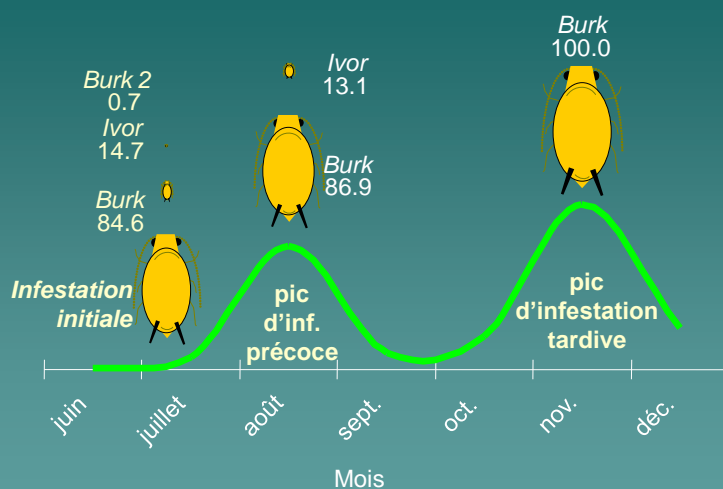
\* Cultures maraîchères  
de saison sèche

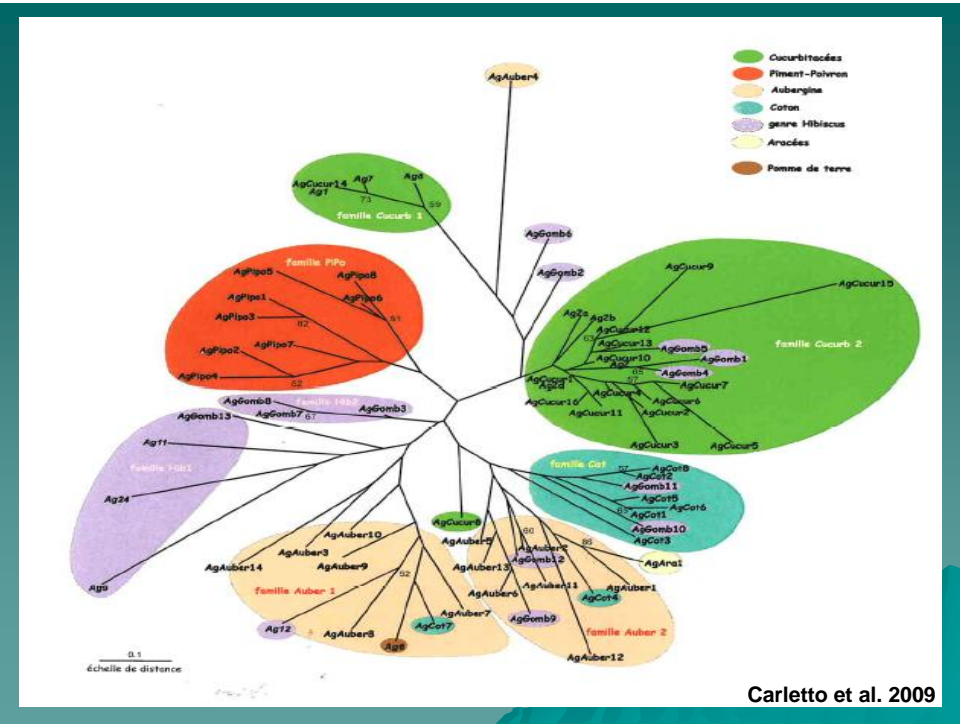
1600 individus génotypés  
(microsatellites)

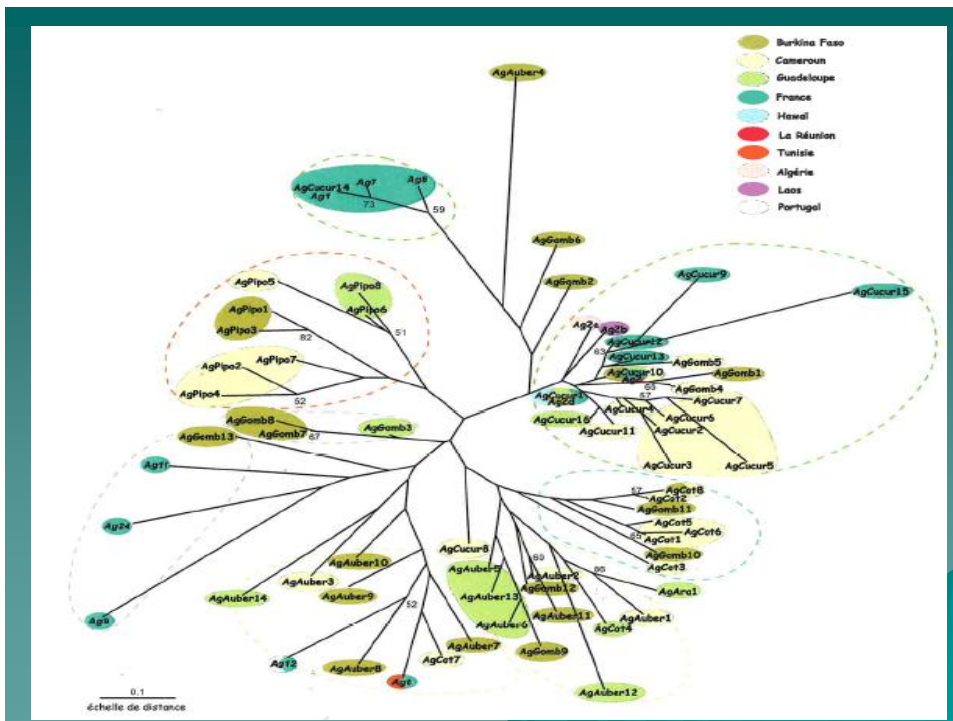


Brévault et al. 2008

## Diversité génétique en culture de coton







## Résistance aux insecticides



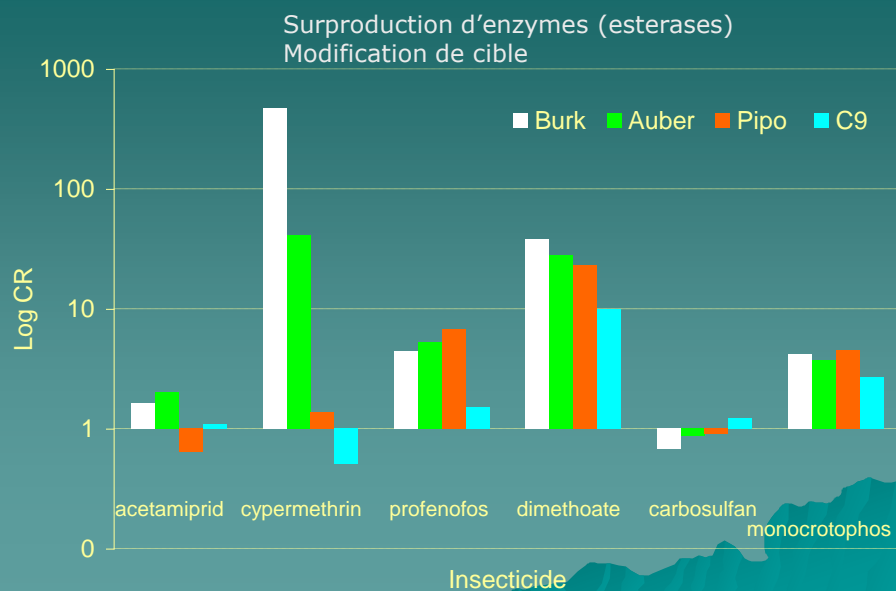
1. pulvérisation des boîtes de Petri
2. transfert des pucerons



3. lecture de la mortalité (24 h)
4. calcul de la DL50



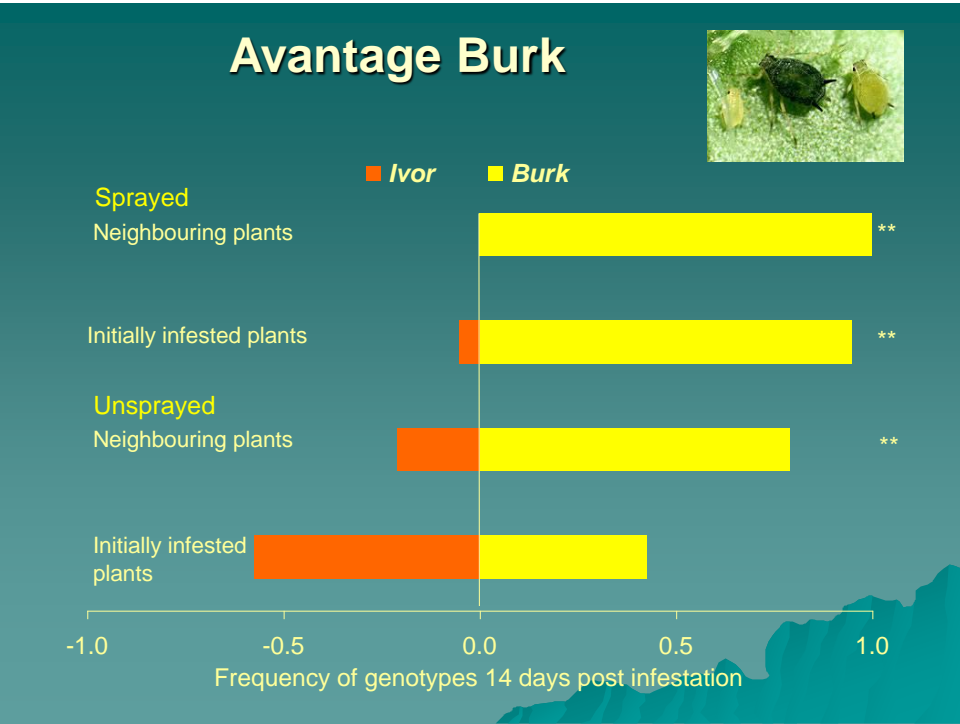
## Carte de résistance aux insecticides



## Compétition inter-clonale



1. infestation de plants avec Burk et Ivor
2. comptage 14 jours plus tard - cages traitées vs. non traitées



# Principes de gestion de la résistance



Principe	Approche	Moyens
Modération	Faible pression de sélection	Plus faibles doses/fréquence Seuils d'intervention plus élevés Insecticides faible rémanence Applications localisées, refuges Contrôle biologique Modes d'action spécifiques
Saturation	Rendre R récessif Supprimer la résistance	Hautes doses RS = SS Synergistes RR=RS=SS
Attaques multiples		Mélange/rotation des produits

(Georghiou, 1994)

